昆虫学报 *Acta Entomologica Sinica*, November 2010, 53(11): 1233 - 1240 ISSN 0454 - 6296

共生菌 *Cardinium* 对朱砂叶螨的生殖调控作用

刘 颖，谢蓉蓉，洪晓月*
（南京农业大学昆虫学系，南京 210095）

摘要：为了了解共生菌 *Cardinium* 对朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus*（Boisduval）的生殖调控作用，从检测到感染 *Cardinium* 的种群中选取山西运城和甘肃兰州 2 个感染率较高的种群作为实验材料，对 *Cardinium* 在寄主生殖调控方面的作用进行研究。通过人工培养 100% 感染 *Cardinium* 的种群和 100% 不感染的种群，并从中挑取不同感染类型的雌雄螨单独进行杂交实验，设立感染 *Cardinium*（♀）×感染 *Cardinium*（♂），感染 *Cardinium*（♀）×不感染（♂），不感染（♀）×感染 *Cardinium*（♂），不感染（♀）×不感染（♂）4 种杂交组合。结果发现，抗生素处理后不感染的雌螨和受感染雄螨的交配表现出了单向的胞质不亲和，而且 2 个种群表现出了 2 种类型：在山西种群不亲和的组合中，CI 表现为卵孵化率显著降低，多数雌螨都产生出 F_1 雌螨后代，但是 F_1 代雌螨数量相对于其他 3 种组合明显减少；而在甘肃种群不亲和的组合中则表现为卵全部孵化且幼螨 100% 存活，但全部为雄螨后代。2 个种群中 *Cardinium* 的亲缘关系非常相近，而它们却能够在不同的地理种群中表现出不同的 CI 表型，这提示亲缘关系非常接近的品系也可以产生不同的表型。研究结果为深入揭示 *Cardinium* 的感染机制和生殖调控作用提供重要基础。

关键词：朱砂叶螨；共生菌；*Cardinium*；生殖调控；胞质不亲和；杂交实验
中图分类号：Q965 **文献标识码**：A **文章编号**：0454-6296(2010)11-1233-08

Manipulation of symbiont *Cardinium* on the reproduction of the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Acari: Tetranychidae)

LIU Ying, XIE Rong-Rong, HONG Xiao-Yue* (Department of Entomology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: To clarify the effect of *Cardinium* on the reproductive traits of the infected carmine spider mites, *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval), the experiments were performed in the Shanxi and Gansu populations of China to test for the cytoplasmic incompatibility (CI) phenotype previously reported to be caused by *Cardinium*. The infected and uninfected mites from each population were crossed with each other in the following four cross combinations: *Cardinium* infected ♀ × *Cardinium* infected ♂, *Cardinium* infected ♀ × uninfected ♂, uninfected ♀ × *Cardinium* infected ♂, uninfected ♀ × uninfected ♂. The results showed that CI was induced in both populations when the infected males were crossed with the uninfected females. Furthermore, the two populations tested showed the different types of CI. In Shanxi population, CI resulted in severe reduction in the hatchability of eggs and the number of F_1 females, while in Gansu population, CI resulted in a 100% hatchability of eggs, but the F_1 generation contained no female mite. The *Cardinium* strains in these two populations share very close relationship, but their different CI performance suggests that closely related strains may have different phenotypes of CI. Our results will be proved useful in future studies on the infection mechanism and reproductive manipulation of *Cardinium*.

Key words: *Tetranychus cinnabarinus*; symbiont; *Cardinium*; reproduction manipulation; cytoplasmic incompatibility; crossing experiment

Cardinium 是一类寄生细菌，属于拟杆菌门（Bacteroidetes）鞘脂杆菌纲（Sphingobacteria），且在系统发育图中单独形成一个支系，和黄杆菌纲（Flavobacteria）的共生菌分支距离较远（Zchori-Fein *et al.*, 2004）。*Cardinium* 在节肢动物中广泛分布，主要存在于蛛形纲以及昆虫纲的膜翅目和半翅目等类群中（Vala *et al.*, 2000; Weeks *et al.*, 2003; Zchori-Fein and Perlman, 2004; Chigira and Miura,

基金项目：国家自然科学基金项目(30871635)；国家公益性行业科技项目(nyhyzx 07-057)
作者简介：刘颖，女，1983 年生，江苏南京人，现为美国加州大学河边分校博士研究生，从事昆虫分子生态研究，E-mail: serene.ying@hotmail.com
* 通讯作者 Corresponding author, Tel.: 025-84395339; E-mail: xyhong@njau.edu.cn
收稿日期 Received: 2010-02-26；接受日期 Accepted: 2010-09-30

2005; Groot and Breeuwer, 2006; Enigl and Schausberger, 2007; Duron *et al*., 2008; Nakamura *et al*., 2009)。在蛛形纲(Arachinida)蜱螨亚纲(Acari)中,目前已发现有5个科的螨类以及1种蜱类感染了 *Cardinium*, 它们分别是奥甲螨科(Oppiidae)、赤螨科(Erythraeidae)、细须螨科(Tenuipalpidae)、叶螨科(Tetranychidae)、植绥螨科(Phytoseiidae)和肩突硬蜱 *Ixodes scapularis*(Weeks and Stouthamer, 2004; Chigira and Miura, 2005; Groot and Breeuwer, 2006; Liu *et al*., 2006; Enigl and Schausberger, 2007; Gotoh *et al*., 2007; Ros and Breeuwer, 2009)。据估计, 约有6% ~7%的节肢动物感染了 *Cardinium*(Weeks *et al*., 2003; Zchori-Fein and Perlman, 2004)。

Cardinium 被发现能够引起宿主的雌性化,诱导产雌孤雌生殖和诱导胞质不亲和(cytoplasmic incompatibility, CI)等生殖异常现象。如能够引起单倍二倍体短须螨属 *Brevipalpus* 的个体雌性化(Weeks *et al*., 2001),诱导匀鞭蚜小蜂属 *Encarsia* 寄生蜂的孤雌生殖和胞质不亲和(Zchori-Fein *et al*., 2001; Harris *et al*., 2010)。此外,*Cardinium* 还能提高种群的繁殖率, 如在西方盲走螨 *Metaseiulus occidentalis* 中, *Cardinium* 的感染使雌螨繁殖率提高近 50% (Weeks and Stouthamer, 2004), 表明 *Cardinium* 的感染能够提高该物种的适合度。

Cardinium 引起的螨类 CI 只在西方盲走螨 *M. occidentalis* 和桑始叶螨 *Eotetranychus suginamensis*(Weeks and Stouthamer, 2004; Gotoh *et al*., 2007)中有报道, 但在这些螨中, *Cardinium* 引起的 CI 都表现为雌螨后代孵化率的降低, 而没有发现偏向雄性性比的 CI, 因此还不能够肯定是否也存在雄虫发育类型(male development, MD), 也不确定2种类型是否和 *Cardinium* 的品系有关, 还是特定寄主和 *Cardinium* 之间的互作的结果。因此, 需要对单倍二倍体寄主进行更深入的研究, 从而弄清 CI 表型在种内的变化程度和差异, 它潜在的决定因素, 以及和其相关的生理代价。

朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus*(Boisduval)是产雄孤雌生殖的单倍二倍体, 且发现部分种群感染了 *Cardinium*(Liu *et al*., 2006)。因此, 本研究的目的是弄清 *Cardinium* 对朱砂叶螨在生殖调控上是否也具有诱导 CI 的作用, 是否能够在种内引起不同的 CI 表型, 以及对寄主适合度的影响, 并初步探讨 CI 表型和寄主以及 *Cardinium* 品系的关系。

1 材料与方法

1.1 供试材料

朱砂叶螨山西运城地理种群(SX)(35°03′N, 110°97′E) 2004年7月采集于棉花, 甘肃兰州地理种群(GS)(36°03′N, 103°50′E) 2004年8月采集于大豆。经鉴定确认种类后, 在实验室里用豆叶进行饲养。本实验室前期研究结果表明这两个种群双感染 *Cardinium* 和 *Wolbachia*(Liu *et al*., 2006)。

1.2 种群中 *Cardinium* 和 *Wolbachia* 双重感染的检测

1.2.1 朱砂叶螨总 DNA 的提取: 详见苗慧等(2004)。

1.2.2 PCR 扩增体系和条件: *Cardinium* 的 16S rDNA 基因片段的扩增, 采用 Liu 等(2006)的方法。*Wolbachia* 的 *wsp* 基因片段的扩增, 采用苗慧等(2004)方法。

1.3 筛选品系

1.3.1 筛选100%单独感染 *Cardinium* 的种群: 取完整的豇豆叶片放在装有海绵的培养皿中(直径为9 cm), 将其划分成多个直径约为1 cm 的圆形小区。从自然种群中挑取处于静Ⅲ态的雌螨个体放入小区中单独培养, 使其孤雌生殖产卵, 并与其雄螨后代回交, 产卵5 d后检测母体, 若发现有单独感染 *Cardinium* 的则将该种群培养至4代后测定其 *Cardinium* 感染率, 达到100%则可用于杂交实验。

1.3.2 抗生素处理筛选完全不感染的种群: 取完整新鲜的菜豆叶片放在装有海绵的培养皿中(直径为9 cm), 用浓度为0.1%的四环素(用于消除 *Wolbachia* 和 *Cardinium*)浸泡24 h后, 从自然种群中挑取数头新孵化的幼螨放在叶片上, 使其自然生长并繁殖后代。以后每日向培养皿中加入蒸馏水以保持海绵的湿润。由于含有抗生素的溶液会使叶片更易腐烂, 因此需要每隔4 ~5 d更换新鲜叶片。等第一批挑取的幼螨成熟后产的卵孵化后, 再用相同的方法从中挑取新生幼螨放在抗生素浸泡, 用这种方法连续培养4代后测定其 *Wolbachia* 和 *Cardinium* 的感染率, 若完全没有 *Wolbachia* 和 *Cardinium* 的感染则可将此种群用于杂交实验。

1.4 种群内遗传杂交实验

为了弄清 *Cardinium* 对其寄主朱砂叶螨的影响, 我们从培养的种群中将感染 *Cardinium* 的和用抗生素处理过的雌雄螨之间分4种组合方式进行杂

交。每一对杂交组合用雌螨/雄螨来表示，使用采集地的缩写来区分 2 个种群，例如，“SX⁺/SX⁻”表示山西运城朱砂叶螨种群中感染的雌螨和处理后的雄螨。根据各种群感染类型的不同，分别以感染 *Cardinium*（♀）× 感染 *Cardinium*（♂），感染 *Cardinium*（♀）×不感染（♂），不感染（♀）×感染 *Cardinium*（♀），不感染（♀）×不感染（♂）4 种杂交组合进行。

具体方法为：取新鲜菜豆叶片，从完全感染或处理后不感染的品系中选取一些静Ⅲ态雌螨分别隔离培养，这些雌螨蜕皮成为成螨后进行产雄孤雌生殖。做杂交组合时，再另取新鲜叶片，每个叶片划分成几个面积均约在 4 cm^2 左右的圆形小区，从之前产雄孤雌生殖后代中挑取单个年轻的蜕皮后 1 - 3 d 的雄螨放入小区，目的是为避免雄螨老化或者同一头多次交配后 *Cardinium* 的影响会减弱；从完全感染或处理后不感染的品系中分别挑取单个（成螨前的最后一个静止期）雌螨放到叶片的小区中，每个小区只放 1 对，若雄螨在雌螨蜕皮前即死亡则需立即补充新的个体。雌螨蜕皮成为成熟个体的 2 d 后将雄螨移走。从开始产卵的第 1 天算起，产卵 5 d 后移走雌螨。

1.5　数据统计与分析

每日记录产卵量、孵化率、幼螨期的成活个体数量及雌雄螨性别比率。并将使用的每对组合中的雌雄螨再用 PCR 进行体内共生菌的检测，以确保每一对是实验所期望的组合类型。若有组合经检测发现不符合理想的标准，则所得数据被视为无效。

将数据进行整理和统计后，输入 SPSS 软件，用 ANOVA 方法分析产卵量、孵化率、F_1 代存活率和雌雄性比，均值的多重比较用 Duncan's multiple range test。根据软件统计结果分析 *Cardinium* 对叶螨的生殖和适合度的影响，即能否提高寄主繁殖能力以及后代的适合度。

2　结果与分析

2.1　双重感染的检测和种群筛选的情况

从山西种群和甘肃兰州种群中分别挑取 40 头雌成螨检测，发现 2 个种群的双重感染率分别为 7.5%（3/40）和 5.0%（2/40）。2 个种群中大部分螨体都只单独感染了 *Cardinium*，而仅有个别单独感染 *Wolbachia*。*Cardinium* 单感染率为 45% ~ 60%，*Wolbachia* 单感染率山西种群只有 5.0%，而甘肃种群没有检测到单独感染 *Wolbachia* 的情况（表 1）。

表 1　朱砂叶螨山西运城和甘肃兰州种群双重感染 *Wolbachia* 和 *Cardinium* 的频率

Table 1　Double infection rate of *Wolbachia* and *Cardinium* in Shanxi and Gansu populations of *Tetranychus cinnabarinus*

地理种群 Geographical population	检测雌成螨个体数 Number of female adults tested	*Cardinium* 单感染率（%） Single infection rate by *Cardinium*	*Wolbachia* 单感染率（%） Single infection rate by *Wolbachia*	双重感染率（%） Double infection rate
山西运城（SX） Yuncheng, Shanxi	40	57.5	5.0	7.5
甘肃兰州（GS） Lanzhou, Gansu	40	45.0	0	5.0

在单独培养单独感染 *Cardinium* 的种群时，我们从 F_1 代到 F_4 代进行的检测发现，种群的感染率一直较高，且呈上升趋势，到 F_4 代时 *Cardinium* 在种群中已趋于稳定，感染率达到 100%。

2.2　*Cardinium* 对山西运城种群朱砂叶螨生殖的影响

在山西运城种群中，我们用抗生素处理后不再感染 *Cardinium* 的雌螨和感染的雄螨交配（SX⁻♀/SX⁺♂），结果表现出了单向的胞质不亲和（表 2）。先后进行了两次 SX⁻♀/SX⁺♂ 杂交组合实验，都表现出相似的结果；两次实验结果合并后统计发现，SX⁻♀/SX⁺♂ 组合所产卵的平均孵化率约为 39%，F_1 代雌螨的平均数量约为 5 ~ 10 头，与 SX⁺♀/SX⁺♂，SX⁺♀/SX⁻♂ 和 SX⁻♀/SX⁻♂ 3 种杂交组合相比，SX⁻♀/SX⁺♂ 杂交组合所产卵的孵化率和 F_1 代雌螨数量明显减少。相反，SX⁺♀/SX⁺♂，SX⁺♀/SX⁻♂ 和 SX⁻♀/SX⁻♂ 组合中没有一对在孵化率和 F_1 代雌螨数量上表现出明显的减少。需要注意的是，由于个体之间的差异，SX⁻♀/SX⁺

♂ 组合中还有很多对统计出的结果均大大低于平均卵孵化率和 F_1 代雌螨数量。从图 1 和图 2 可以看出，不同对雌雄螨杂交后所产卵的孵化率和 F_1 代雌螨数量变化相当大，其中有 3 对所产的卵全部没有孵化；而其他 3 种组合中，SX^+ ♀/SX^+ ♂ 组合 F_1 代雌螨比例明显高出 SX^+ ♀/SX^- ♂ 和 SX^- ♀/SX^- ♂ 组合，卵孵化率却没有表现出明显的差异。

2.3 *Cardinium* 对甘肃兰州种群朱砂叶螨生殖的影响

在甘肃种群中，抗生素处理后被消除 *Cardinium* 感染的雌螨和感染的雄螨交配的组合 (GS^-/GS^+) 也先后做了 2 次，结果也都表现出了单向的胞质不亲和(表 3)，不感染的雌螨交配后所产卵全部孵化，且全部为雄螨后代，属于完全的不亲和，而且幼螨期的存活率都达到 100%。GS^-/GS^+ 和 GS^+/GS^- 在孵化率上没有显著差异，说明在不亲和的组合中，受精卵单倍体化的结果是全部发育成单倍体的雄性后代而没有任何胚胎死亡。当然，叶螨是营产雄孤雌生殖的物种，因此没有受精的卵子也会发育成雄螨，但是我们先后一共做了超过 40 组的重复，每一组都产生了全部的雄螨后代，而其他 3 种杂交组合只有极个别雌雄对有此现象(图 3)，不可能只有 GS^-/GS^+ 组合 40 多组全部只产生雄螨后代都是因孤雌生殖导致，可以完全排除是未受精的情况。此外，GS^-/GS^+ 组合在产卵量上与其他 3 种组合具有明显的差异，说明 *Cardinium* 的感染会降低该种群雌螨的繁殖能力。

表 2　朱砂叶螨山西运城种群(SX)处理后不感染和感染 *Cardinium* 的雌雄螨之间杂交的亲和性比较

Table 2　Compatibility of crosses between *Cardinium*-infected and antibiotic-treated individuals of the Shanxi population (SX) of *Tetranychus cinnabarinus*

组合类型 Cross type (♀×♂)	数量 Number of individuals	产卵量 Number of eggs laid per female	孵化率(%) Hatchability	幼螨期成活率(%) Survival rate in immature stages	F_1 代雌螨数 Number of F_1 females	F_1 代雄螨数 Number of F_1 males
$SX^+ \times SX^+$	34	31.03 ± 0.79 b	96.91 ± 0.55 c	96.38 ± 0.63 b	25.91 ± 0.74 d	3.32 ± 0.21 ab
$SX^+ \times SX^-$	29	28.38 ± 0.87 ab	98.14 ± 0.61 c	93.55 ± 1.08 ab	21.76 ± 0.77 c	4.34 ± 0.24 c
$SX^- \times SX^+$ (1)[A]	22	26.95 ± 1.20 a	43.55 ± 5.16 b	85.09 ± 6.40 a	8.77 ± 1.40 b	2.68 ± 0.34 a
$SX^- \times SX^+$ (2)[A]	18	26.50 ± 1.05 a	32.72 ± 4.55 a	93.78 ± 5.56 ab	5.61 ± 0.99 a	2.83 ± 0.37 a
$SX^- \times SX^-$	22	26.95 ± 0.84 a	98.55 ± 0.40 c	95.77 ± 0.80 b	21.23 ± 0.74 c	4.09 ± 0.29 bc
$F_{4,120}$[B]		4.457**	148.974***	1.940	87.042***	6.712***

[A] 括号中数字代表该杂交组合实验进行的序次 Number in parentheses indicates the sequence number of trials; [B] 表示平均值(± *SE*)在 $P = 0.01$ 水平(**)和 $P = 0.001$ 水平(***)上差异显著(ANOVA) Means (± *SE*) differ significantly at $P = 0.01$ level (**) and $P = 0.001$ level (***) (ANOVA), respectively. 同列数据后不同字母代表在 $P = 0.05$ 水平上差异显著(Tukey HSD test)。Values in a column followed by different letters are significantly different at $P = 0.05$ level (Tukey HSD test). 表 3 同 The same for Table 3.

表 3　朱砂叶螨甘肃兰州种群(GS)处理后不感染和感染 *Cardinium* 的雌雄螨之间杂交的亲和性比较

Table 3　Compatibility of crosses between *Cardinium*-infected and antibiotic-treated individuals of the Gansu population (GS) of *Tetranychus cinnabarinus*

组合类型 Cross type (♀×♂)	数量 Number of individuals	产卵量 Number of eggs laid per female	孵化率(%) Hatchability	幼螨期成活率(%) Survival rate in immature stages	F_1 代雌螨数 Number of F_1 females	F_1 代雄螨数 Number of F_1 males
$GS^+ \times GS^+$	26	25.27 ± 0.65 b	96.69 ± 0.71 a	97.73 ± 0.74 a	20.08 ± 0.54 bc	3.77 ± 0.33 a
$GS^+ \times GS^-$	25	25.08 ± 0.78 b	96.28 ± 0.64 a	97.52 ± 0.61 a	19.68 ± 0.60 b	3.88 ± 0.26 a
$GS^- \times GS^+$ (1)[A]	19	18.11 ± 0.86 a	100.00 ± 0.00 b	100.00 ± 0.00 b	0.00 ± 0.00 a	18.11 ± 0.86 b
$GS^- \times GS^+$ (2)[A]	22	18.50 ± 0.82 a	100.00 ± 0.00 b	100.00 ± 0.00 b	0.00 ± 0.00 a	18.50 ± 0.82 b
$GS^- \times GS^-$	22	25.82 ± 0.98 b	98.68 ± 0.52 b	98.23 ± 0.48 a	21.45 ± 0.83 c	3.50 ± 0.25 a
$F_{4,109}$[B]		21.739***	11.202***	5.305***	410.555***	215.859***

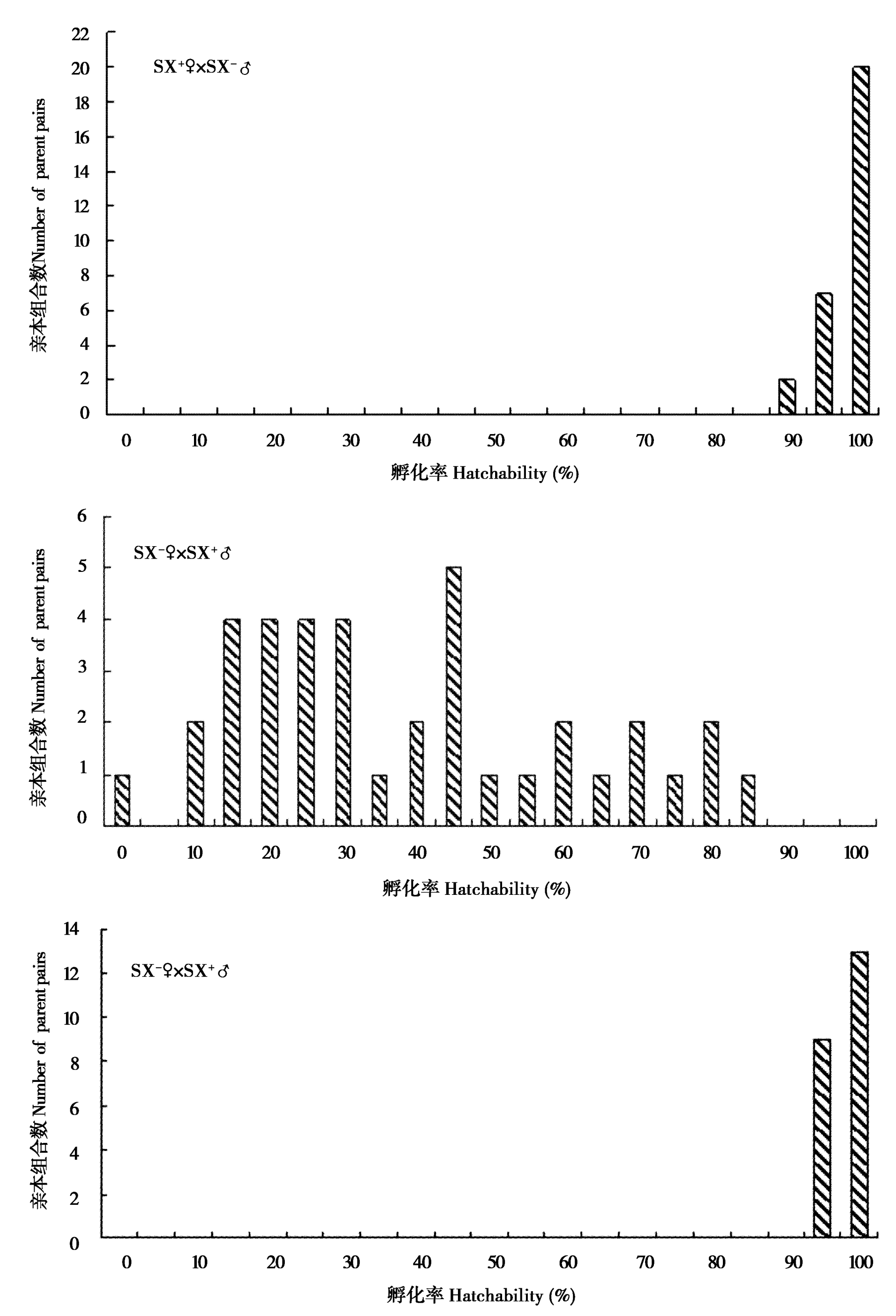


图 1　朱砂叶螨山西运城种群抗生素处理后不感染和完全感染 *Cardinium* 的单对雌雄螨组合产卵的孵化率

Fig. 1　Egg hatchability of the F_1 offspring produced by the crosses between antibiotic-treated and *Cardinium*-infected individuals in the Shanxi population of *Tetranychus cinnabarinus*

3　讨论

从山西和甘肃 2 个朱砂叶螨自然种群中检测的双重感染的频率都非常低，明显低于单独感染 *Cardinium* 的频率，相对于苗慧(2005)对朱砂叶螨种群检测的情况，*Wolbachia* 的感染率明显减少，而 *Cardinium* 却都达到相对高而稳定的感染率，这说明双重感染是不能在同一种群中稳定存在的。已有研究发现，在不同品系的 *Wolbachia* 中，某一个品系可能会突变产生修饰精子的新机制，这种修饰不能被自然品系或突变品系所营救，从而演变成为新的 CI 类型 (Charlat *et al*., 2001, 2005)。Engelstädter 等 (2006) 对 CI 机制所建立的模型表明，这种新的 CI 在种内近交繁殖中不符合自然选择规律，因此寄主中含有不止一种共生菌品系感染的情况只会暂时存在，而不是最终稳定的结果。*Cardinium* 和 *Wolbachia* 在系统发育中分属于两大类群，本身亲缘

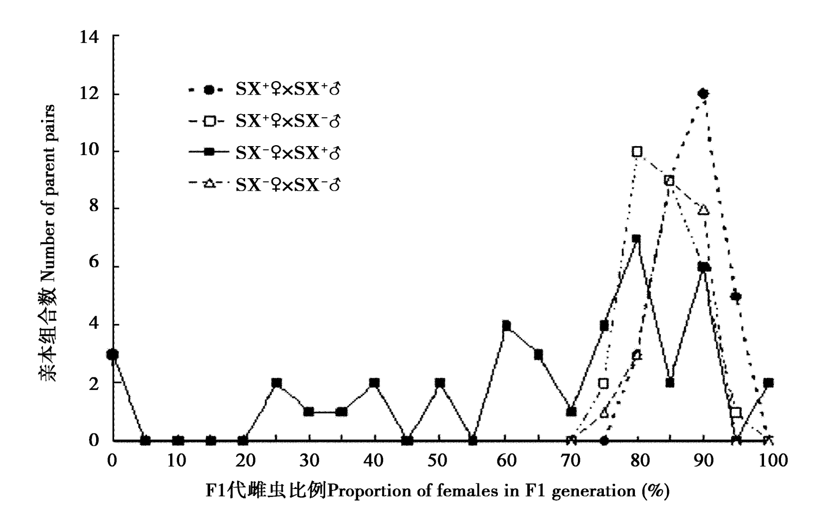


图 2 朱砂叶螨山西运城种群处理后不感染和完全感染 *Cardinium* 的雌雄螨杂交后 F_1 代雌虫所占比例

Fig. 2 Sex ratio (proportion of females) in F1 offspring produced by the crosses between antibiotic-treated and *Cardinium*-infected individuals in the Shanxi population of *Tetranychus cinnabarinus*

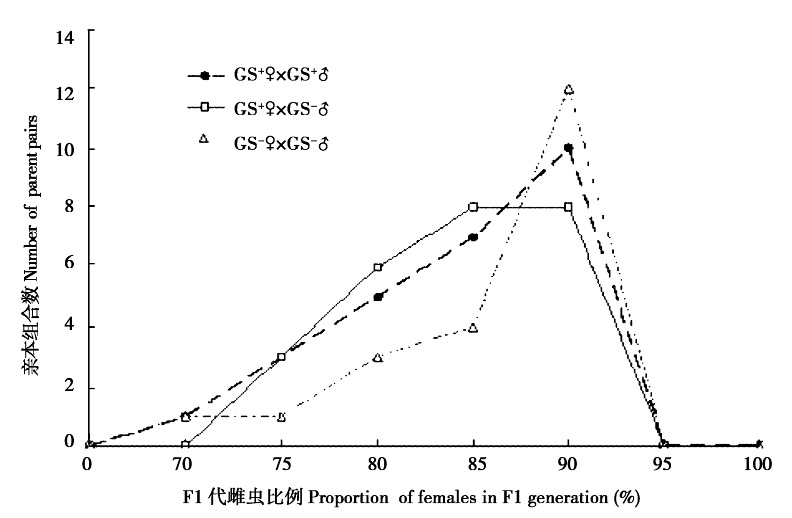


图 3 朱砂叶螨甘肃兰州种群处理后不感染和完全感染 *Cardinium* 的雌雄螨杂交后 F_1 代雌虫所占比例

Fig. 3 Sex ratio (proportion of females) in F1 offspring produced by the crosses between antibiotic-treated and *Cardinium*-infected individuals in the Gansu population of *Tetranychus cinnabarinu*

由于不亲和组合 GS$^-$ ♀ × GS$^+$ ♂ 全部为雄虫后代，故没有在图中示出此组合的雌虫后代比例。Because there was only male offspring in the CI cross GS$^-$ ♀ × GS$^+$ ♂, the proportion of female offspring was not shown in the figure.

关系就很远，根据 Engelstädter 等(2006)的理论，我们推断两者可能具有不同的修饰精子的机制，导致种内杂交可能产生了新的 CI，而这种 CI 会使 *Wolbachia* 的传播率降低。

对中国朱砂叶螨的 2 个地理种群所做的实验结果表明，*Cardinium* 能够影响朱砂叶螨的生殖行为，表现为胞质不亲和。这是继 *Wolbachia* 之后发现的第 2 个能诱导 CI 的共生微生物，在寄生蜂恩蚜小蜂 *Encarsia pergandiella* 中也有过报道(Hunter *et al*., 2003)。CI 在 2 个叶螨地理种群中分别表现为不同的表型:在山西种群不亲和的组合中，CI 表现为卵孵化率显著降低，多数雌螨都产生出 F_1 雌螨后代，但是 F_1 代雌螨数量比其他 3 种亲和的组合减少了 50% 以上。雌螨后代数量的减少是由于雌性胚胎死亡，即孵化率要比亲和的组合的平均孵化率减少 50% 。我们的实验排除了雄螨多次交配导致作用的减弱，也许能够说明 *Cardinium* 感染的朱砂叶螨不亲和组合卵的孵化率(33%~44%)要比 *Wolbachia* 感染的卵孵化率影响大(56%~99%)(Gotoh *et al*., 2003, 2005)。不过孵化率也并不总是明显减少，有少数不亲和的组合卵孵化率在 70% 以上，所以也并不清楚 *Cardinium* 是否总是能够表现强烈的 CI。

这种较大的变化可能与雄虫的龄期有关：较老的雄虫通常不如年轻的雄虫表现出强烈的 CI (Hoffmann *et al.*, 1986)，而此实验中用的雄成螨是从蜕皮后 1 –3 d 不等，故还需要进行比较性实验以进一步弄清雄螨的龄期对不亲和程度的影响。而在甘肃种群不亲和的组合中则表现为卵全部孵化且幼螨 100% 存活，但全部为雄螨后代，这与 *Wolbachia* 对二斑叶螨的生殖调控作用十分类似(Perrot-Minnot *et al.*, 2002)。

有趣的是，根据我们之前以 *Cardinium* 的 16S rDNA 基因序列建立的支序图(Liu *et al.*, 2006)，可以看出山西和甘肃 2 个叶螨种群中感染的 *Cardinium* 被分在一个分支中，且亲缘关系非常相近(序列相似度达 99%)，而它们却能够在同一个物种不同的地理种群中表现出不同的 CI 表型，这可能说明亲缘关系非常接近的品系也可以在同一个物种中产生不同的表型，这也许意味着 CI 的表现类型与 *Cardinium* 品系间没有明显相关性。与细菌的传播率类似，CI 的表达在种群内或种群间也是多变的，可能受到以下一个或多个因素的影响：(1)不同品系的 *Cardinium* 的基因型不同，可能某段与生殖调控相关的基因序列发生了变异；(2)两个地理种群的朱砂叶螨分别具有不同的遗传背景，导致基因型的差异；(3)在不同寄主体内的微生物数量也会有差异，可能是由于寄主和共生菌的相互影响，还有表型不同导致的结果。后两个因子可能还由其他一些因素决定。此外，细菌的密度和寄主的日龄等因素也可能与 CI 的表型有关。如果未来能够实现将受感染种群中的 *Cardinium* 人工转移到一个没有感染的种群或感染了相同的 *Cardinium* 却表现出不同的生殖表型的种群中，那么也许就能解释这种奇怪而又有趣的现象了。

参 考 文 献 (References)

Charlat S, Calmet C, Andrieu O, Mercot H, 2005. Exploring the evolution of *Wolbachia* compatibility types: a simulation approach. *Genetics*, 170: 495 –507.

Charlat S, Calmet C, Mercot H, 2001. On the mod resc model and the evolution of *Wolbachia* compatibility types. *Genetics*, 159: 1415 –1422.

Chigira A, Miura K, 2005. Detection of the ‘*Candidatus* Cardinium’ bacteria from the haploid host *Brevipalpus californicus* (Acari: Tenuipalpidae) and effect on the host. *Experimental and Applied Acarology*, 37: 107 –116.

Duron O, Hurst GDD, Hornett EA, Josling JA, Engelstädter J, 2008. High incidence of the maternally inherited bacterium *Cardinium* in spiders. *Molecular Ecology*, 17: 1427 –1437.

Engelstädter J, Charlat S, Pomiankowski A, Hurst GDD, 2006. The evolution of cytoplasmic incompatibility types: integrating segregation, inbreeding and outbreeding. *Genetics*, 172: 2601 –2611.

Enigl M, Schausberger P, 2007. Incidence of the endosymbionts *Wolbachia*, *Cardinium* and *Spiroplasma* in phytoseiid mites and associated prey. *Experimental and Applied Acarology*, 42: 75 –85.

Gotoh T, Noda H, Fujita T, Iwadate K, Higo Y, Saito S, Ohtsuka S, 2005. *Wolbachia* and nuclear-nuclear interactions contribute to reproductive incompatibility in the spider mite *Panonychus mori* (Acari: Tetranychidae). *Heredity*, 94: 237 –246.

Gotoh T, Noda H, Hong XY, 2003. *Wolbachia* distribution and cytoplasmic incompatibility based on a survey of 42 spider mite species (Acari: Tetranychidae) in Japan. *Heredity*, 91: 208 –216.

Gotoh T, Noda H, Ito S, 2007. *Cardinium* symbionts cause cytoplasmic incompatibility in spider mites. *Heredity*, 98: 13 –20.

Groot TVM, Breeuwer JAJ, 2006. *Cardinium* symbionts induce haploid thelytoky in most clones of three closely related *Brevipalpus* species. *Experimental and Applied Acarology*, 39: 257 –271.

Harris LR, Kelly SE, Hunter MS, Perlman SJ, 2010. Population dynamics and rapid spread of *Cardinium*, a bacterial endosymbiont causing cytoplasmic incompatibility in *Encarsia pergandiella* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Heredity*, 104: 239 –246.

Hoffmann AA, Turelli M, Simmons GM, 1986. Unidirectional incompatibility between populations of *Drosophila simulans*. *Evolution*, 40: 692 –701.

Hunter MS, Perlman SJ, Kelly SE, 2003. A bacterial symbiont in the *Bacteroidetes* induces cytoplasmic incompatibility in the parasitoid wasp *Encarsia pergandiella*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B –Biological Sciences*, 270: 2185 –2190.

Liu Y, Miao H, Hong XY, 2006. Distribution of the endosymbiontic bacterium *Cardinium* in Chinese populations of the carmine spider mite *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Applied Entomology*, 130(9 –10): 523 –529.

Miao H, 2005. Sequence Determination and Phylogenetic Analysis of the *wsp* Gene of *Wolbachia* in the Chinese Spider Mites. MSc Thesis, Nanjing Agricultural University, Nanjing. [苗慧, 2005. 我国叶螨体内感染的 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因序列测定与系统发育分析. 南京：南京农业大学硕士学位论文]

Miao H, Hong XY, Xie L, Xue XF, 2004. Sequencing and sequence analysis of the *wsp* gene of *Wolbachia* in *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae). *Acta Entomologica Sinica*, 47(6): 738 –743. [苗慧, 洪晓月, 谢霖, 薛晓峰, 2004. 朱砂叶螨体内感染的 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因序列测定与分析. 昆虫学报, 47(6): 738 –743]

Nakamura Y, Kawai S, Yukuhiro F, Ito S, Gotoh T, Kisimoto R, Yanase T, Matsumoto Y, Kageyama D, Noda H, 2009. Prevalence of *Cardinium* bacteria in planthoppers and spider mites and taxonomic revision of “*Candidatus* Cardinium hertigii” based on detection of a new *Cardinium* group from biting midges. *Applied and*

Environmental Microbiology, 75: 6757 - 6763.

Perrot-Minnot MJ, Cheval B, Migeon A, Navajas M, 2002. Contrasting effects of *Wolbachia* on cytoplasmic incompatibility and fecundity in the haplodiploid mite *Tetranychus urticae*. *Journal of Evolutionary Biology*, 15: 808 - 817.

Ros VID, Breeuwer JAJ, 2009. The effects of, and interactions between, *Cardinium* and *Wolbachia* in the doubly infected spider mite *Bryobia sarothamni* (Acari: Tetranychidae). *Heredity*, 102: 413 - 422.

Vala F, Breeuwer JAJ, Sabelis MW, 2000. *Wolbachia*-induced "hybrid breakdown" in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch. *Proceedings of the Royal Society of London Series B - Biological Sciences*, 267: 1931 - 1937.

Weeks AR, Marec F, Breeuwer JAJ, 2001. A mite species that consists entirely of haploid females. *Science*, 292: 2479 - 2482.

Weeks AR, Stouthamer R, 2004. Increased fecundity associated with infection by a *Cytophaga*-like intracellular bacterium in the predatory mite, *Metaseiulus occidentalis*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B - Biological Sciences*, 271: S193 - S195.

Weeks AR, Velten R, Stouthamer R, 2003. Incidence of a new sex ratio distorting endosymbiotic bacterium among arthropods. *Proceedings of the Royal Society of London Series B - Biological Sciences*, 270: 1857 - 1865.

Zchori-Fein E, Gottlieb Y, Kelly SE, Brown JK, Wilson JM, Karr TL, Hunter MS, 2001. A newly discovered bacterium associated with parthenogenesis and a change in host selection behavior in parasitoid wasps. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98: 12555 - 12560.

Zchori-Fein E, Perlman SJ, 2004. Distribution of the bacterial symbiont *Cardinium* in arthropods. *Molecular Ecology*, 13: 2009 - 2016.

Zchori-Fein E, Perlman SJ, Kelly SE, Katzir N, Hunter MS, 2004. Characterization of a '*Bacteroidetes*' symbiont in *Encarsia* wasps (Hymenoptera: Aphelinidae): proposal of '*Candidatus* Cardinium hertigii'. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54: 961 - 968.

（责任编辑：袁德成）